

**Wechselbeziehungen
zwischen Sympathomimetika, Adenosin, ATP
sowie Magnesium-, Calcium- und Kalium-Ionen
an der isolierten Rattenpfortader**

Barbara Brück

1979

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof.Dr. Manfred Kiese

WECHSELBEZIEHUNGEN

ZWISCHEN SYMPATHOMIMETIKA, ADENOSIN, ATP

SOWIE MAGNESIUM-, CALCIUM- UND KALIUM-IONEN

AN DER ISOLIERTEN RATTENPFORTADER

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Barbara Brück

aus

Regensburg

München 1979

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr.med.W. Felix
Mitberichterstatter:	Prof. Dr.med.M. Kiese
Dekan:	Prof. Dr.med.W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	18. 5. 1979



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Methodik	3
1. Versuchsanordnung	3
2. Versuchsablauf	3
3. Statistische Auswertung	4
4. Pharmaka	4
C. Ergebnisse	5
1. Noradrenalin	5
2. Adrenalin	8
3. Isoprenalin	11
4. Adenosin	13
5. Adenosintriphosphat (ATP)	13
6. Wirkung von Noradrenalin und Adrenalin unter Einfluß von Adenosin oder ATP	13
7. Magnesium, Calcium, Kalium	17
8. Adenosin und ATP mit Isoprenalin	18
D. Diskussion	22
E. Zusammenfassung	26
Literatur	27

A. EINLEITUNG

Als erster hat Alquist (1948) auf Grund der Vorarbeiten von Dale (1906) das Zusammenwirken adrenerger Rezeptoren erkannt: „Man unterscheidet am Wirkort α - und β -Rezeptoren. Das sind anatomisch und chemisch unbekannte, funktionell postulierte Vermittler adrenerger Wirkungen.“ Anlaß zur Formulierung dieser Hypothese waren Befunde, nach denen zwar die erregende Wirkung von Adrenalin auf die glatte Muskulatur, vermittelt durch α -Rezeptoren, durch Antagonisten aufgehoben werden konnte, nicht aber die hemmende Wirkung, vermittelt durch β -Rezeptoren. Die Effekte von Acetylcholin und Noradrenalin betreffen zwei wichtige Eigenschaften des glatten Muskels:

- 1) Spontanaktivität,
- 2) Empfindlichkeit gegenüber chemischen Agentien.

Der glatte Muskel besitzt gewöhnlich zweifache nervöse Versorgung, durch parasympathische (cholinerge) und sympathische (adrenerge) Fasern; dies dient weniger der Auslösung als vielmehr der Modifikation seiner Aktivität. Gewöhnlich wirkt Reizung des einen Teils des autonomen Nervensystems der Stimulierung des anderen Teils entgegen. Bei vielen glattemuskulären Erfolgsorganen verursachen adrenerge Nerven Zunahme, cholinerge Nerven Abnahme der Muskelaktivität (z. B. Hautgefäßmuskulatur - α -Rezeptoren). Bei anderen glatten Muskeln ist es umgekehrt, das heißt, adrenerge Nerven hemmen die Aktivität, und cholinerge fördern sie (z. B. Darmmuskulatur - β -Rezeptoren).

Die Erregung der α -Rezeptoren in den Blutgefäßen führt zu einer Kontraktion der glatten Muskulatur, die Erregung der β -Rezeptoren zu einer Erschlaffung. Die Wirkung eines Sympathomimetikums ist folglich von der Rezeptorverteilung am Erfolgsorgan abhängig.

Die isolierten Rattenvenen, an denen wir unsere Versuche anstellten, enthalten, wie in früheren, ähnlichen Versuchen z. B. durch Somlyo und Somlyo (1968, 1970) sowie Wooten u. Mitarb. (1973) herausgefunden wurde, sowohl α - als auch β -Rezeptoren.

Wir verwendeten drei Sympathomimetika: Noradrenalin, das vorwiegend auf α -Rezeptoren, Adrenalin, das sowohl auf α - als auch auf β -Rezeptoren, und Isoprenalin, das vorwiegend auf β -Rezeptoren wirkt.

Die vorliegende Untersuchung soll prüfen, wie obengenannte Pharmaka unter dem Einfluß von Adenosin und ATP wirken. Bei Versuchen in vivo an der narkotisierten Katze im Pharmakologischen Institut der Universität München (Felix, unveröffentlichte Versuche) war beobachtet worden, daß die vasokonstriktorische Wirkung von Suprifen bei gleichzeitiger Adenosingabe verstärkt wurde.

Da das isolierte Organ unter keiner übergeordneten nervösen oder humoralen Beeinflussung steht, ist die pharmakologische Wirkung nur durch direkten Angriff an der Muskelzelle selbst oder an erregbaren Membranen in der Wand des Organs zu erzielen.

B. METHODIK

1. Versuchsanordnung

Die Ratten wurden mit einem Schlag ins Genick getötet. Nach Eröffnung der Bauchhöhle, unter ständiger Beträufelung mit einer Nährlösung nach Krebs-Walter, die mit Carbogengas (O_2 95 %, CO_2 5 %) durchperlt wird, wurde die Pfortader von distal bis zum Eintritt in die Leber freipräpariert. Die Vene wurde oberflächlich eingeschnitten, damit man ein Kunststoffstäbchen von ca. 1 mm Durchmesser in das Gefäßlumen schieben konnte. Anschließend wurde die Vene aus dem Körper herausgetrennt und im Gegenurzeigersinn in einem Winkel von 45° spiralförmig aufgeschnitten. So erhielt man einen Venenstreifen von 15 - 30 mm Länge.

Zusammensetzung der Nährlösung für Venen nach Krebs-Walter:

mM pro Liter

NaCl	122	MgCl · 6 H ₂ O	1,19
KCl	4,73	NaHCO ₃	15,50
CaCl ₂	3,29	KH ₂ PO ₄	1,19
		Glukose · H ₂ O	11,50

Der Venenstreifen wurde in einem 20 ml fassenden Organbad, das von einem Thermostaten konstant auf einer Temperatur von 37° gehalten wurde, zwischen zwei Haken befestigt. Der untere Haken war starr, der obere mit einem beweglichen Hebel verbunden, der mit einem Gewicht von 200 mg belastet wurde. Über diesen Hebel wurde die Venenkontraktion mit einem Photowiderstand elektro-mechanisch umgewandelt, mit den Gleichstrombrücken (Filbig KG München) gemessen und durch einen Zweifachschreiber (Abimed) aufgezeichnet.

2. Versuchsablauf

Nachdem die Venenstreifen in den Organbädern, die aus obengenannter Krebs-Walter-Lösung bestanden, befestigt worden waren, wurde mindestens $1\frac{1}{2}$ Stunde gewartet, bis die Aufzeichnungskurve gleichmäßige Spontankontraktionen erkennen ließ. Dann erst konnte man mit der Zugabe der Pharmaka beginnen.

3. Statistische Auswertung

An den registrierten Kurven wurden folgende Daten gemessen:

Amplitude der Ausschläge, Frequenz der Spontanaktivität, Änderung des Grundtonus.

- a) Als Grundtonus bezeichnen wir diejenige gedachte Linie auf dem Registrierpapier, von der die rhythmischen Kontraktionen ausgehen.
- b) Als Frequenz bezeichnen wir die Anzahl der Venenkontraktionen pro Minute.
Mittelwert: ca. 6,5 / min $\pm$ SE.
- c) Die Amplitude bezeichnet die Höhe der Ausschläge.

Die gemessenen Daten wurden einem Computer eingegeben (Olivetti P 6060) und durch ein speziell für diese Versuche erstelltes Programm verarbeitet.

Die jeweilige vasodilatatorische oder vasokonstriktorische Wirkung wurde als Längenänderung $\Delta\%$ der Ausgangslänge des Organstreifens errechnet und ausgegeben. Als Bezugswert der Amplitudenänderungen galt die mittlere Amplitude der Spontankontraktionen vor Gabe des jeweiligen Pharmakons. Als Bezugswert für Frequenzänderungen galt die vor Gabe eines bestimmten Pharmakons herrschende Frequenz der Spontankontraktionen.

4. Pharmaka

Folgende Substanzen verwendeten wir für unsere Versuche:

Substanz	Handelsbezeichnung
Noradrenalin (NA)	Arterenol (1 : 1000) Hoechst
Adrenalin	Suprarenin (1 : 1000) Hoechst
Isoprenalin	
Adenosin	
Adenosintriphosphat (ATP)	

C. ERGEBNISSE

Für unsere Versuche benötigten wir 50 Ratten. Von den 50 Portalvenen zeigten neun keine Spontanaktivität, sie waren für uns unbrauchbar. An den anderen 41 Organen führten wir insgesamt 224 Einzelversuche durch.

Bei den letzten fünf Versuchen konnten wir plötzlich nicht mehr die gleichen Ergebnisse wie in allen vorhergehenden Versuchen erzielen. Fehler in der Präparation oder in der Nährlösung konnten ausgeschlossen werden. Auch stellte sich heraus, daß alle Tiere vom selben Stamm waren. Die Möglichkeit einer genetischen Änderung konnte allerdings nicht ausgeschlossen werden. Eine andere Ursache für dieses Phänomen könnten meteorologische Veränderungen sein. Definitiv konnten wir es nicht klären.

Zunächst testeten wir die Wirkung der einzelnen Pharmaka getrennt.

1. Noradrenalin

Noradrenalin wurde in steigenden Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-6} gegeben. Wir warteten ab, bis die Spontanaktivität der Venen gleichmäßig war. Dann gaben wir Noradrenalin in dreiminütigem Abstand.

In den niedrigen Konzentrationen von 10^{-10} - 10^{-8} zeigte sich in allen Versuchen nur ein sehr geringer Einfluß auf die Spontanaktivität. Erst bei einer Konzentration von 10^{-7} - 10^{-6} war eine deutliche Vasokonstriktion festzustellen, die sich durch Ansteigen des Grundtonus, Erhöhung der Frequenz und Verkleinerung der Amplitude ausdrückte (Abb. 1).

Die nachfolgenden Kurven zeigen die Änderung von Frequenz, Amplitude und Grundtonus im Verhältnis zu den Ausgangswerten (= Spontanaktivität der Venen vor Zugabe des Pharmakons) in $\Delta\%$, wobei die Ausgangswerte gleich 100% gesetzt wurden (Abb. 2). Dabei bedeutet die Abszisse die Konzentration des Pharmakons in Mol / l, die Ordinate die Änderung in $\Delta\%$.

Abb. 1: Originalregistrierung. Wirkung steigender Konzentrationen von Noradrenalin (negativer Logarithmus der molaren Konzentration).

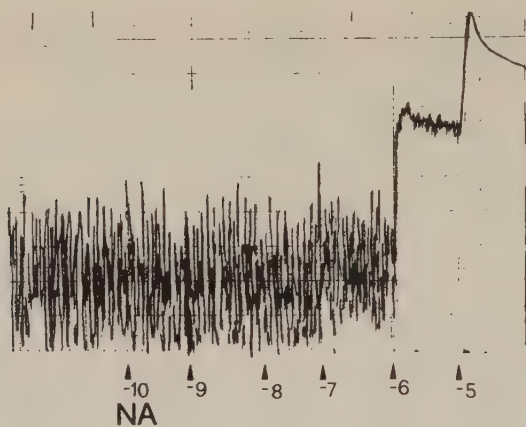
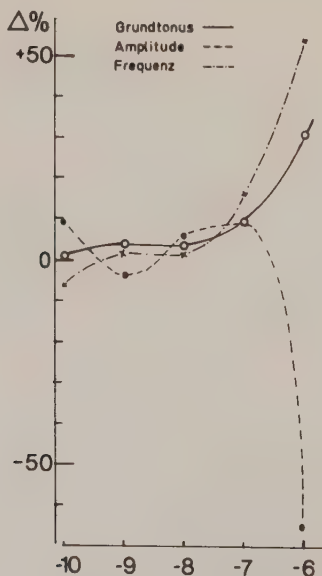


Abb. 2: Mittelwerte von Grundtonus, Amplitude und Frequenz in $\Delta\%$ (Ordinate) unter dem Einfluß von Noradrenalin. Abszisse: neg. Log. der mol. Konz. von Noradrenalin.



Tab. 1: Noradrenalin. Änderung in Mittelwerten (SE = Standarderror)

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	- 6,5 %	+ 9,3 %	+ 0,6 % SE 0,08
10^{-9}	+ 1,5 %	- 4,0 %	+ 4,0 % SE 0,6
10^{-8}	+ 1,4 %	+ 6,5 %	+ 3,5 % SE 0,6
10^{-7}	+ 16, %	+ 8,9 %	+ 9,4 % SE 1,25
10^{-6}	+ 53,5 %	- 65,7 %	+ 30,8 % SE 6,3

Die Frequenz fiel bei einer Konzentration von 10^{-10} geringfügig ab, blieb bei 10^{-9} und 10^{-8} konstant, stieg bei 10^{-7} gering und bei 10^{-6} deutlich an, d. h. um mehr als 50 % der Anfangsfrequenz.

Die Amplitude wird bei geringer Konzentration etwas größer, sinkt bei 10^{-9} wieder ab, steigt bei 10^{-8} und 10^{-7} noch einmal leicht an und fällt dann bei 10^{-6} um 65 % ab.

Der Grundtonus bleibt bei geringen Konzentrationen unverändert, nimmt bei 10^{-7} etwas zu und steigt bei 10^{-6} um etwa 30 % an.

Das bedeutet, daß bei einer NoradrenalinKonzentration von 10^{-6} die Frequenz um ca. 54 % erhöht, die Amplitude um 66 % verkleinert ist und der Grundtonus um 31 % steigt.

2. Adrenalin

Auch Adrenalin wurde in kumulativen Konzentrationen („Treppe“) mit Drei-Minuten/Intervallen gegeben. In Konzentrationen von 10^{-10} – 10^{-6} beeinflusste es die Spontanaktivität der Pfortadern nur unwesentlich. Im Gegensatz zum Noradrenalin trat beim Adrenalin bereits bei einer Konzentration von 10^{-7} eine deutliche Vasokonstriktion auf, die wie beim Noradrenalin von einer Steigerung der Frequenz, Verkürzung der Amplitude und Erhöhung des Grundtonus begleitet war (Abb. 3).

Abb. 3 : Originalregistrierung.
Wirkung steigender Konzentrationen von Adrenalin
(neg. Log. der mol. Konz.).

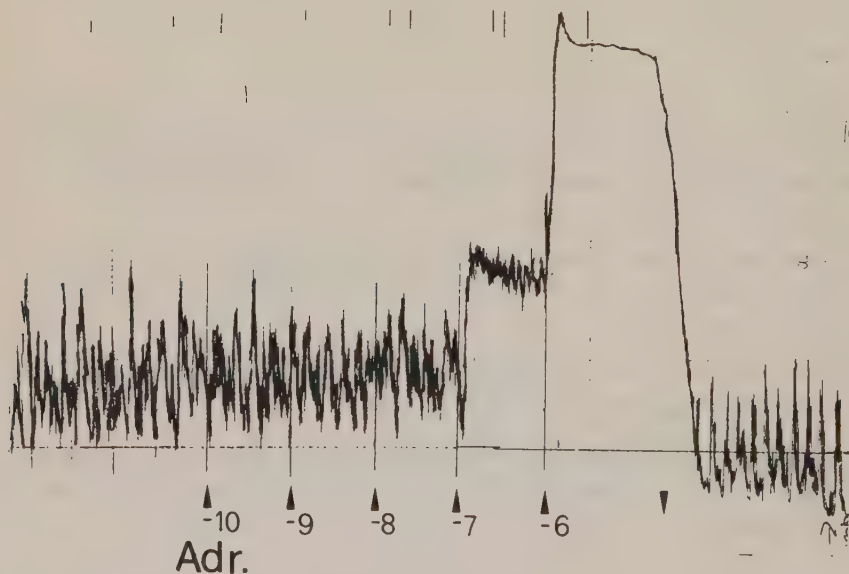


Abb. 3

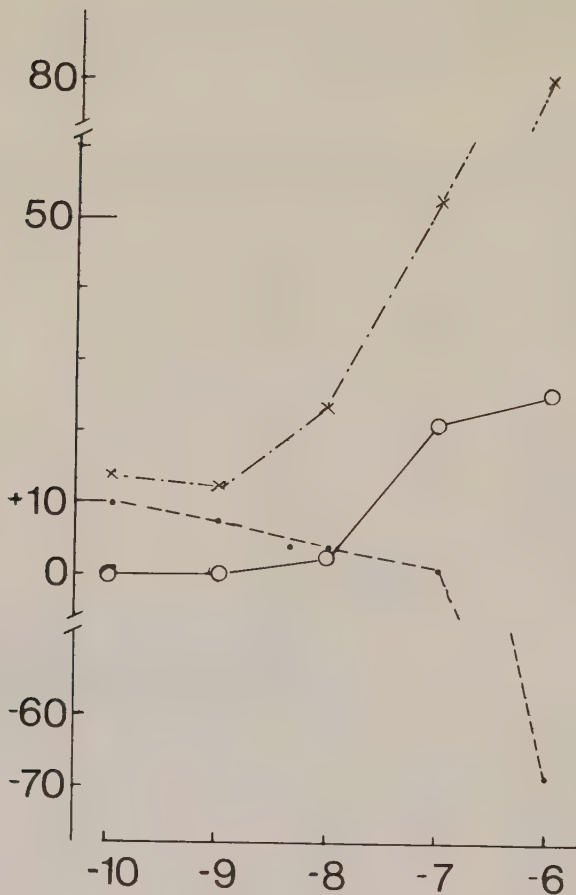
Bei einer Adrenalin-Konzentration von 10^{-6} war die Kontraktion stärker als bei der gleichen Konzentration Noradrenalin. Besonders deutlich zeigte sich dies in der Frequenzsteigerung, die bereits bei 10^{-7} beginnt und um 35 % stärker ist als bei Noradrenalin gleicher Konzentration, während die Amplitude etwa gleich stark abfällt, nämlich um 67 %. Der Grundtonus stieg bei Adrenalin bereits bei einer Konzentration von 10^{-7} , bei Noradrenalin erst bei 10^{-6} an, die Endhöhe war jedoch bei beiden Pharmaka gleich. (Abb. 4)

Tab. 2: Adrenalin. Änderung in Mittelwerten

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	+ 14,4 %	+ 9,8 %	- 0,2 % SE 0,2
10^{-9}	+ 12,5 %	+ 7,5 %	0,0 % SE 0,2
10^{-8}	+ 24,7 %	+ 4,4 %	+ 2,8 % SE 1,2
10^{-7}	+ 52,9 %	+ 2,8 %	+ 22,0 % SE 4,5
10^{-6}	+ 86,4 %	- 67,0 %	+ 25,4 % SE 4,3

Abb. 4 : Mittelwerte von Grundtonus, Amplitude und Frequenz in $\Delta\%$ (Ordinate) unter dem Einfluß von Adrenalin. Abszisse: neg. Log. der mol. Konz. von Adrenalin.

Grundtonus —
Amplitude ----
Frequenz -.-.-



3. Isoprenalin

Isoprenalin zeigte in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-8} eine deutlich elongierende Wirkung auf die Pfortaderstreifen. Diese war mit Senkung der Frequenz, Verkürzung der Amplitude und Senkung des Grundtonus verbunden.

Erst ab einer Konzentration von 10^{-5} zeigte sich eine Verkürzung, die aber wesentlich geringer war als jene durch Adrenalin und Noradrenalin.

Während 10^{-6} molares Adrenalin und Noradrenalin eine Frequenzsteigerung von 86 % und 54 % hervorriefen, führte äquimolares Isoprenalin nur zu einer Frequenzzunahme von 35 % (Abb. 5).

Die Amplitude war bereits bei einer Konzentration von 10^{-10} um ca. 33 % vermindert. Bei 10^{-6} war sie im Unterschied zu den beiden anderen Substanzen nur um ca. 37 % verkürzt (gegenüber etwa 60 % bei Adrenalin und Noradrenalin). Der Grundtonus erreichte bei 10^{-9} den tiefsten Punkt, war bei einer Konzentration von 10^{-6} , unter der er bei Adrenalin und Noradrenalin bereits um 30 % erhöht war, unverändert und stieg erst bei einer Konzentration von 10^{-5} um ca. 23 %. (Abb. 6)

Tab. 3 : Isoprenalin. Änderung in Mittelwerten

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	- 9,9 %	- 32,7 %	- 11,2 % SE 1,2
10^{-9}	+ 0,9 %	- 45,6 %	- 26,3 % SE 1,8
10^{-8}	+ 15,5 %	- 55,8 %	- 5,6 % SE 0,8
10^{-7}	+ 27,5 %	- 49,3 %	- 6,6 % SE 0,4
10^{-6}	+ 34,8 %	- 36,8 %	0,0 % SE 0,2
10^{-5}	+ 40,5 %	- 6,6 %	+ 23,3 % 4,9

Abb. 5 : Originalregistrierung. Wirkung steigender Konzentrationen von Isoprenalin (neg. Log. der mol. Konz.).

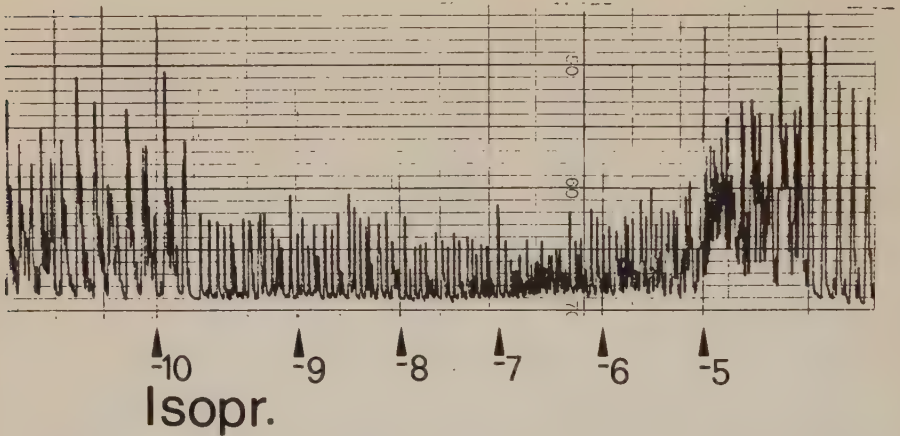
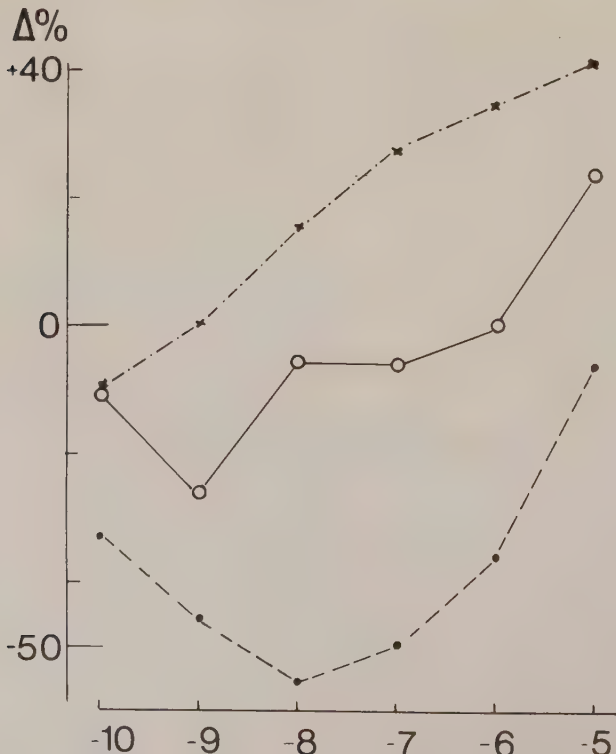


Abb. 6 : Mittelwerte von Grundtonus, Amplitude und Frequenz in $\Delta\%$ (Ordinate) unter dem Einfluß von Isoprenalin. Abszisse: neg. Log. der mol. Konz. von Isoprenalin.

Grundtonus — Amplitude - - - - Frequenz - . - . -



4. Adenosin

Adenosin - ein Nucleotid aus der Purinbase Adenin und dem Zucker Ribose - beeinflusste die Rattenvenen nicht.

5. Adenosintriphosphat (ATP)

ATP ist ein Nucleotid aus der Base Adenin, dem Zucker Ribose und drei Phosphorsäureresten. Es enthält zwei energiereiche Bindungen und besitzt ein hohes Gruppenübertragungspotential.

6. Wirkung von Noradrenalin und Adrenalin unter Einfluss von Adenosin oder ATP

Nach einer Vorbehandlung des Organs mit Noradrenalin in steigenden Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-6} wurde gespült und Adenosin oder ATP in einer Konzentration von 10^{-7} hinzugegeben. Nach etwa 6 Minuten - die Spontanaktivität der Vene änderte sich dabei nicht - wurde Noradrenalin, wie vorher beschrieben, in steigenden Konzentrationen gegeben. Bereits bei einer Konzentration von 10^{-9} kam es zu einer starken Vasokonstriktion. Bei Adrenalin trat unter der Einwirkung von Adenosin oder ATP die gleiche Wirkungsverstärkung auf (Abb. 7 u. 8).

Wurde nach dieser Behandlung das Organ wieder so lange mit frischer Ringerlösung gespült, bis der Ausgangstonus der Vene erreicht war, und erneut Noradrenalin oder Adrenalin in steigenden Konzentrationen gegeben, so erfolgte bereits bei einer Konzentration von 10^{-9} wieder eine deutliche Vasokonstriktion, ohne daß erneut Adenosin oder ATP hinzugegeben worden wäre.

Gab man nun umgekehrt bei einer Noradrenalin- oder Adrenalin-Konzentration von 10^{-6} Adenosin oder ATP in einer Konzentration von 10^{-7} , so änderte sich nichts. Nach Ausspülen mit Ringerlösung und erneuter Adrenalin- oder Noradrenalingabe kam es jedoch wieder bei 10^{-9} zu der vorher beschriebenen Wirkungsverstärkung.

Dieser potenzierende Effekt trat jedoch nur dann auf, wenn das Organ vorher bereits mit Adrenalin oder Noradrenalin behandelt worden war. Gab man Adenosin oder ATP zuerst, dann zeigte sich bei der ersten folgenden Adrenalin- oder Noradrenalingabe eine Kontraktion bei 10^{-7} bzw. 10^{-6} . Spülte man nun aus und gab wieder Adrenalin oder Noradrenalin, so trat in beiden Fällen bei 10^{-9} eine Vasokonstriktion auf.

Abb. 7 und 8: Originalregistrierungen der Adrenalin-Wirkung
ohne und mit Adenosin.

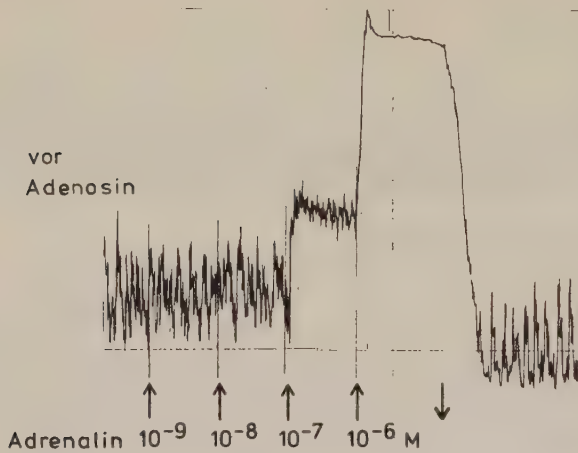


Abb. 7

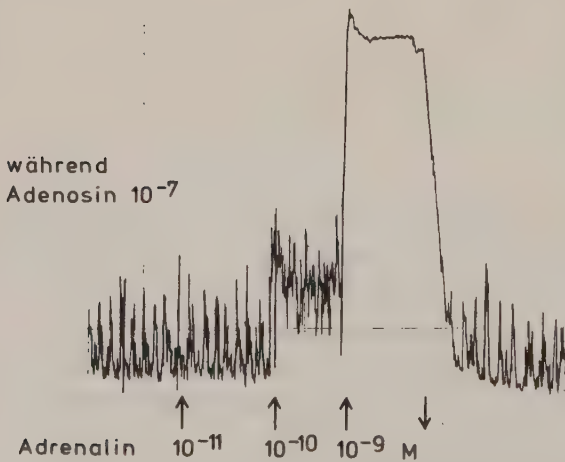


Abb. 8

Diese Wirkungsverstärkung drückte sich besonders in der Frequenz aus; bei einer Konzentration von 10^{-10} war sie bereits um ca. 10% erhöht, bei 10^{-9} betrug die Steigerung ca. 60% gegenüber der Wirkung von Adrenalin oder Noradrenalin allein. Ähnliche Werte gelten auch für die Verkürzung der Amplitude. Der Grundtonus war im Gegensatz zu Adrenalin oder Noradrenalin allein um ca. 30% erhöht. (Abb. 9 - 11)

Tab. 4 : Änderung in Mittelwerten unter Einfluß von Adenosin und ATP für Noradrenalin

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	+ 8,6 %	+ 26,4 %	+ 19,0 % SE 1,0
10^{-9}	+ 66,5 %	- 57,8 %	+ 37,6 % SE 2,3

Tab. 5 : Änderung in Mittelwerten unter Einfluß von Adenosin und ATP für Adrenalin

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	+ 24,7 %	+ 36,5 %	+ 11,7 % SE 1,2
10^{-9}	+ 80,5 %	- 60,1 %	+ 34,8 % SE 3,2

Die Wirkungsverstärkung verschwand auch nach mehrmaligem Spülen nicht. Deshalb suchten wir nach einer Substanz, welche die Wirkung des Adenosin und ATP aufhob.

Abb. 9 bis 11: Einfluß von Adenosin (10^{-7} M) auf die Wirkungen von Noradrenalin und Adrenalin. Abb. 9 Frequenz, Abb. 10 Amplitude, Abb. 11 Grundtonus. Mittelwerte aus 14 (Adrenalin) bzw. 19 (Noradrenalin) Versuchen. Änderungen in $\Delta\%$.

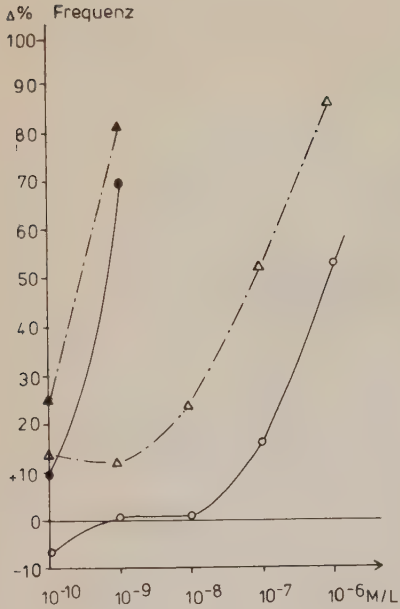


Abb. 9

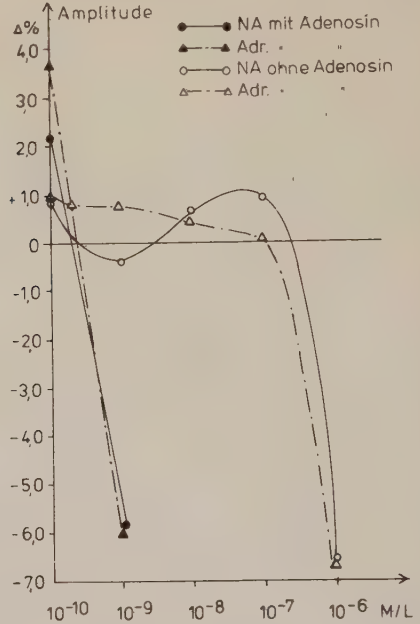


Abb. 10

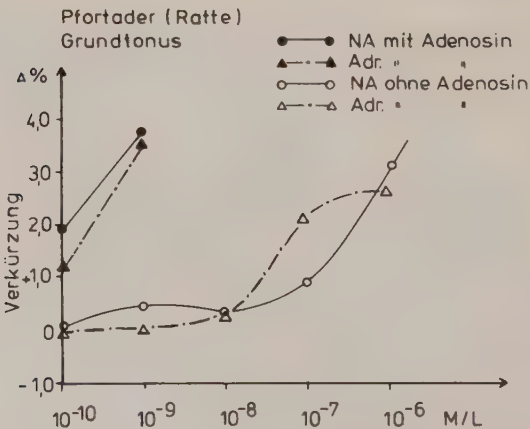


Abb. 11

7. Magnesium, Calcium, Kalium

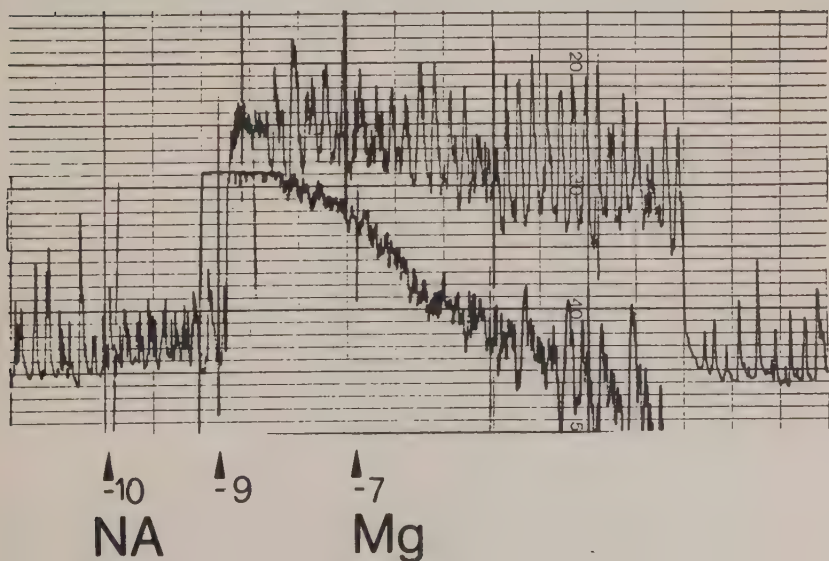
Zu einer Adenosin- oder ATP-Konzentration von 10^{-7} und anschließenden steigenden Adrenalin- oder Noradrenalin-Konzentrationen bis 10^{-9} , wobei starke Vasokonstriktion auftrat, gaben wir Magnesium-Ionen in einer Konzentration von 10^{-7} . Sofort trat eine deutliche Vasodilatation ein. Wenn man nach dem Spülen mit Ringerlösung erneut Adrenalin oder Noradrenalin in steigenden Konzentrationen gab, zeigte sich erst wieder bei 10^{-7} bzw. 10^{-6} eine deutliche Vasokonstriktion.

Gab man anschließend wieder Adenosin oder ATP mit Adrenalin oder Noradrenalin, war der Verstärkungseffekt bei 10^{-9} wieder vorhanden. (Abb. 12)

Die gleiche Wirkung ließ sich auch mit Calcium-Ionen erreichen.

Calcium-Ionen ergaben den gleichen Befund. Gab man aber erneut Adenosin oder ATP und anschließend Adrenalin oder Noradrenalin, erfolgte die Vasokonstriktion nicht wie erwartet bei 10^{-9} , sondern erst bei 10^{-6} , wie bei Gaben von Adrenalin oder Noradrenalin allein. Wir wiederholten diesen Versuch mehrmals, immer wieder mit dem gleichen Ergebnis.

Abb. 12 : Aufhebung der verstärkenden Wirkung des Adenosins (10^{-7} M) durch Mg^{++} (10^{-7} M). Mg^{++} hebt die kontrahierende Wirkung von NA (10^{-9} M) auf. NA wirkt auch nach Ausspülen erst wieder in einer Konzentration von 10^{-6} gleich stark kontrahierend.



8. Adenosin und ATP mit Isoprenalin

Mit Isoprenalin wurden die gleichen Versuche wie zuvor mit Adrenalin und Noradrenalin durchgeführt. Dabei stellten wir fest, daß das Zusammenwirken dieser Substanzen völlig anders war.

Durch die Einwirkung von Adenosin oder ATP auf Isoprenalin wurde die in geringen Konzentrationen auftretende Vasodilatation aufgehoben. Die Frequenz nahm nur geringfügig zu und schwankte bis zu einer Konzentration von 10^{-6} nur um ca. 6 %. Bei 10^{-5} war die Frequenz zwar etwas erhöht, aber nicht in dem Maß wie ohne Adenosin oder ATP. Die Amplitude war unter Adenosin- und ATP-Einfluß deutlich verlängert. Der Grundtonus war ähnlich wie die Frequenz ca. 10 % höher als bei Isoprenalin allein, blieb aber bis zu einer Konzentration von 10^{-6} konstant und stieg bei einer Konzentration von 10^{-5} nochmals um ca. 10 % an. (Abb. 13

Wesentlich unterschieden sich die Versuche mit Isoprenalin von den vorhergehenden darin, daß der Einfluß von Adenosin und ATP reversibel war. Nach Ausspülen wirkte Isoprenalin wieder wie zuvor, in niederen Dosen dilatierend, in höheren kontrahierend. (Abb. 14 - 16)

Tab. 6 : Änderung in Mittelwerten unter Einfluß von Adenosin und ATP für Isoprenalin

Konz.	Frequenz	Amplitude	Grundtonus
10^{-10}	+ 13,1 %	+ 3,8 %	+ 2,8 % SE 0,2
10^{-9}	+ 16,7 %	+ 13,5 %	+ 3,6 % SE 0,5
10^{-8}	+ 7,6 %	+ 19,5 %	+ 3,6 % SE 0,4
10^{-7}	+ 10,2 %	+ 30,1 %	+ 2,2 % SE 0,6
10^{-6}	+ 13,8 %	+ 30,8 %	+ 5,4 % SE 0,4
10^{-5}	+ 29,5 %	+ 24,5 %	+ 14,1 % SE 1,2

Auf Grund dieser Ergebnisse versuchten wir, Isoprenalin an Stelle von Magnesium, Calcium oder Kalium zu verwenden. Dabei erreichten wir den gleichen Effekt: Trotz Adenosin- bzw. ATP-Einfluß trat die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin (kumulative Konzentrationen) bei Isoprenalingabe in einer Konzentration von 10^{-7} nicht auf, vielmehr bewirkte Isoprenalin eine deutliche Erschlaffung. Nach Spülen und erneuter Adrenalin- oder Noradrenalingabe kam es erst bei einer Konzentration von 10^{-7} bzw. 10^{-6} zur Kontraktion.

Abb. 13 : Originalregistrierung.

Nach Adenosin (10^{-7}) wirkt Isoprenalin nicht mehr dilatierend.

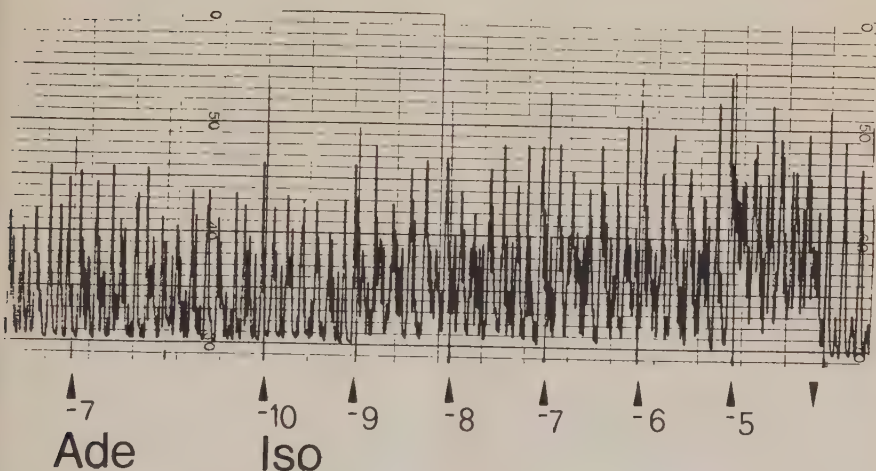


Abb. 14 bis 16: Einfluß von Adenosin bzw. ATP auf die Wirkungen steigender Konzentrationen Isoprenalalin. Abb. 14 Frequenz, Abb. 15 Amplitude, Abb. 16 Grundtonus. Mittelwerte in $\Delta\%$ (Ordinate). Abszisse: neg. Log. der mol. Konz.

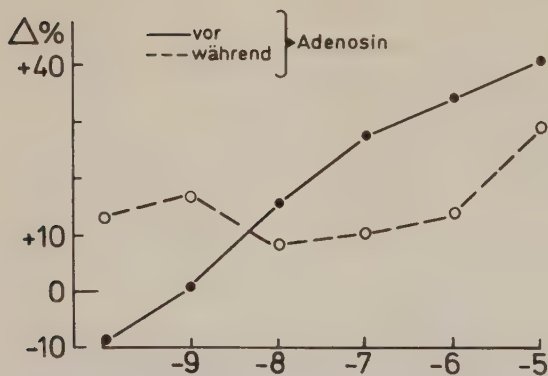


Abb. 14

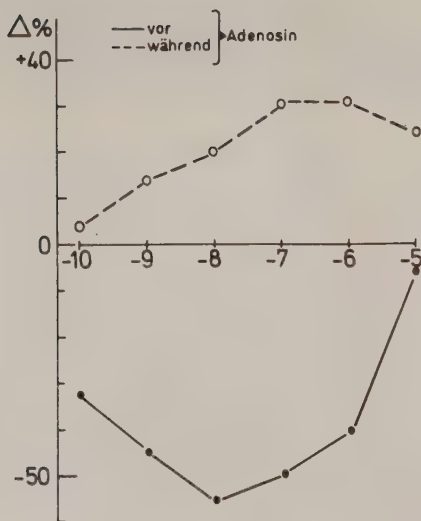


Abb. 15

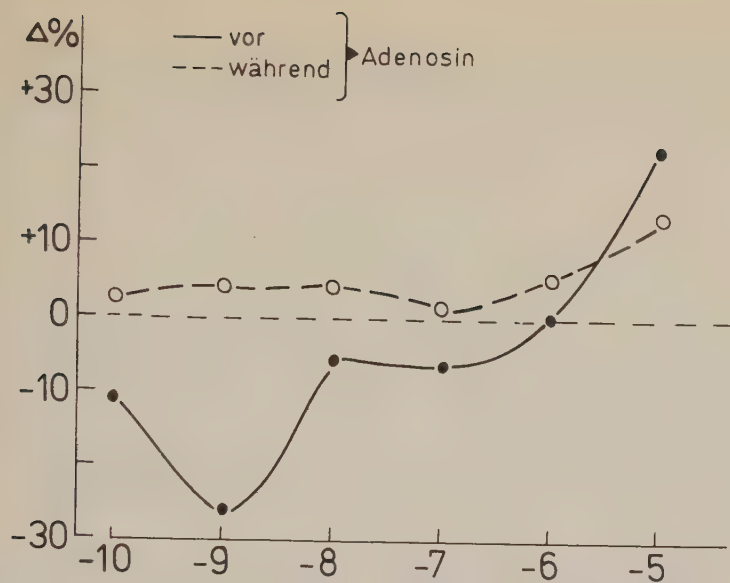


Abb. 16

D. DISKUSSION

Wie aus den Versuchen hervorgeht, verstärkten Adenosin und ATP die kontrahierende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin um den Faktor 1000. Dabei wirkten 10^{-6} M Adrenalin vor und 10^{-9} M Adrenalin nach Adenosin gleich stark. Es überraschte, daß dieser potenzierende Effekt nicht auswaschbar war, wohl aber reversibel, und zwar durch Gabe von K-Ionen und Dipyridamol (Persantin^R).

Die Ergebnisse sind atypisch in doppelter Hinsicht:

- 1) Adenosin und ATP wirken an sich erschlaffend (Su 1974, Sjöberg u. Wahlström 1975)
- 2) Der Effekt war zunächst reproduzierbar in Versuchen mit über 80 Organen, wurde dann plötzlich schwächer bzw. blieb ganz aus. Für dieses Phänomen gibt es bislang keine befriedigende Erklärung.

Die erschlaffende Wirkung niedriger Isoprenalin-Konzentrationen wurde aufgehoben, eine Verstärkung der kontrahierenden Wirkung hoher Isoprenalin-Konzentrationen war nicht festzustellen.

Diese Reaktionen werfen die Frage nach dem Wirkungsmechanismus auf, der durch die Kombination der Sympathomimetika mit Adenosin und ATP in Gang gesetzt wird. Bekannt ist bisher, daß ATP nicht in die Zelle eindringt, so daß wir hier einen reinen Membraneffekt haben, der die purinergen Rezeptoren aktiviert (Burnstock 1972). Adenosin hat ebenfalls einen Membraneffekt, es dringt außerdem aber auch in die Zelle ein. Bei Versuchen mit elektrisch stimulierten Gefäßstreifen wurde eine abnehmende Na-Freisetzung durch Adenosin beobachtet, während bei erschlafften Gefäßstreifen eine verstärkte NA-Freisetzung aus den Vesikeln nachgewiesen werden konnte (Verhaeghe u. Vanhoutte 1977). Dieser Effekt wurde mit ATP nicht erzielt; so muß die Fähigkeit des Adenosins, die Membran zu passieren, diesen Wirkungsmechanismus auslösen. Hier spielt das Dipyridamol eine wichtige Rolle (Goodman/Gilman 1975). Es ist ein Calciumantagonist, von dem wir eigentlich erwartet haben, er würde die Wirkung von Adenosin und ATP verstärken. Hopkins und Goldie stellten 1971 fest, daß die Aktivität von Dipyridamol mit dem Stoffwechsel von Adenosin und ATP in Verbindung gebracht werden muß. „Dipyridamol verstärkt das Verweilen von Adenosin im Plasma in gleichem Maße, wie es die Aufnahme in die Erythrocyten hemmt.“ In unseren Versuchen, von denen allerdings nur zwei mit diesem Präparat durchgeführt wurden, zeigte sich das Gegenteil. Die Adenosin- und ATP-Wirkung wurde aufgehoben.

Wie ATP hat auch Adenosin einen Membraneffekt. Adenosin aktiviert die Adenylcyclase, wodurch es zu vermehrter c-AMP-Bildung kommt. Dadurch entsteht eine verstärkte Kontraktion, für die nicht unbedingt purinerge Rezeptoren notwendig sind. Gleichzeitig wird auch eine fördernde Wirkung auf α -Rezeptoren festgestellt.

Der Kontraktionsvorgang im glatten Muskel ist noch nicht vollständig geklärt. Es ist nur bekannt, daß im Muskel ein komplexes System, bestehend aus Myosin, Aktin, Magnesium-, Calcium-, Kalium- und Natrium-Ionen, wirkt. Die Doppelfunktion des ATP (neben seiner Aufgabe als Energielieferant) ist wesentlich für die Muskelkontraktion und -erschaffung.

Die erschaffende Wirkung beruht darauf, daß ATP die Bindungsstellen des Myosins für Aktin besetzt und so die Bindung verhindert. Die ATP-Spaltung (durch die ATPase-Wirkung des Myosins) führt durch Assoziation der Filamente zur Fixierung des Kontraktionszustandes; diese Spaltung wird jedoch durch bestimmte Stoffe des Sarkoplasmas gehemmt (Ganong 1972, 1974).

Die Kontraktionen-auslösende Wirkung beruht auf der Spaltung und der Resynthese des ATP im Zusammenwirken mit den Hemmstoffen im Sarkoplasma: Erregung führt zu zeitweiliger Inaktivierung des Hemmstoffes, zu ATP-Spaltung in ADP und freien P-Rest und zu Kontraktion; bei Wiedereinsetzen der Hemmwirkung erfolgt Resynthese des ATP und damit Erschlaffung des Muskels. Die Hemmstoffinaktivierung wird bewirkt durch Calcium-Ionen, die bei Erregung ins Sarkoplasma diffundieren, dann aber möglicherweise wieder durch aktiven Transport in die Zelle aufgenommen werden (Ca-Pumpe) (Somlyo und Somlyo 1968).

Der eigentliche Kontraktionsvorgang beruht auf gleitender Verschiebung der Aktin-Filamente: ATP überträgt die endständige Phosphorsäure unter Mitwirkung des Myosins auf eine saure Gruppe des Aktins. Sie wird dann gegen den Schwefelrest einer SH-Gruppe am Myosin ausgetauscht; durch weitere Reaktionen, wobei die Bindungen immer energieärmer werden, rückt das Aktin am Myosin weiter. Wird schließlich die durch Hydrolyse frei werdende saure Gruppe des Aktins neu phosphoryliert, wiederholt sich der Vorgang (Somlyo und Somlyo 1968, 1970).

Diese Vorgänge zeigen zwar, daß ATP für Kontraktion und Erschlaffung unbedingt notwendig ist, doch war in unseren Versuchen durch alleinige Gabe von ATP oder Adenosin keine Änderung in der Spontanaktivität der Rattenpfortadern festzustellen, weil es extracellulär blieb.

Die Potenzierung der kontrahierenden Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin durch Adenosin und ATP könnte durch eine Änderung der Ionenverteilung zustande kommen. Nach Verhaeghe und Vanhoutte (1977) hebt Adenosin eine durch NA-Freisetzung erzeugte Vasokonstriktion auf, während eine durch Tyramin ausgelöste Konstriktion von Adenosin unbeeinflusst bleibt. Da NA-Freisetzung Ca^{++} -abhängig ist, Tyraminfreisetzung jedoch nicht, ist eine Beeinflussung der transmembralen Ionenpermeabilität, ausgelöst durch Adenosin, anzunehmen.

Somlyo und Somlyo (1968) vermuten, daß Pharmaka Änderungen im Membranpotential hervorrufen, entweder indem sie die passive Membranpermeabilität für einige spezifische Ionen verändern oder indem sie die Ionenpumpe hemmen oder stimulieren oder beides. Die Kontraktion entsteht durch Zunahme, die Erschlaffung durch Abnahme von Calcium-Ionen, die für die kontraktile Proteine verfügbar sind. In Form der bekannten Elektrolytzusammensetzung der glatten Gefäßmuskulatur kann Depolarisierung durch eine Zunahme der Na-Permeabilität oder durch eine K-Pumpe verursacht werden, Hyperpolarisation durch eine Zunahme der K-Permeabilität oder durch eine Na-Pumpe. Die Wirkung der wechselnden Pumpenaktivität auf das Membranpotential ist vom Kopplungsverhältnis abhängig, das verändert werden kann. (Somlyo u. Somlyo 1968).

Die Kontraktion der Pfortader der Ratte, die mit Depolarisation und Entladung des Aktionspotentials einhergeht, wird durch Entfernen des äußeren K erzeugt. Dieser Vorgang ist ein direkter K-Effekt und rührt nicht von der Freisetzung endogener Katecholamine her. Ein solches Verhalten des monovalenten Ionenflusses ist auch in der zeitlich und quantitativ begrenzten Wechselbeziehung zwischen den Änderungen im Membranpotential und der Spannungsentwicklung, verursacht durch Pharmaka, widerspiegelt. Das durch Adrenalin beeinflusste Anwachsen der K-Permeabilität in der Rattenaorta ist ein α -Effekt. Von den adrenergen Aminen ist bekannt, daß sie die Na-Pumpe des Skelettmuskels stimulieren.

Die Zunahme von Calcium im Interzellularraum verursacht ebenso Kontraktionen, und ein Absinken der Calciumaktivität im Cytoplasma führt zur Erschlaffung (Bianchi 1961, 1968). Catchpole u. Mitarb. behaupten, daß Na und Ca um Anionen-Bindungsstellen in der Grundsubstanz konkurrieren (1956). Laut Schild u. Mitarb. (1967) heben höhere Konzentrationen von Ca die erschlaffende Wirkung von Adrenalin am glatten Muskel der Trachea auf; diese Versuche wurden allerdings am depolarisierten Myometrium durchgeführt.

Aktiver Transport von Ca in den Extrazellularraum bietet sich selbst als möglicher Mechanismus für die Erschlaffung im glatten Muskel an.

Anders als Kalium- und Calcium-Ionen wirken Magnesium-Ionen. Altura und Altura (1974) haben festgestellt, daß Magnesium-Ionen die Erregung der Kontraktion durch Beteiligung an der Regulierung der Membranpermeabilität oder durch Binden der Ca-Kapazität bewirken können.

Die ATPase-Aktivität des Myosins hängt möglicherweise von den Magnesium-Ionen ab. Magnesium spielt eine grundlegende Rolle in vielen biochemischen Reaktionen einschließlich der Freisetzung und des Transportes von Phosphatgruppen (Livingstone u. Wacker 1971). Ein möglicher Membraneffekt des Magnesiums könnte eine Störung der Leitfähigkeit unter den Zellen sein (Sigurdsson u. Uvelius 1977).

Unsere Ergebnisse zeigen, daß steigende Magnesium-Konzentrationen einen hemmenden Effekt auf die Spontanaktivität der Rattenpfortadern haben.

Aus den Versuchen ist noch nicht eindeutig zu erklären, auf welchen Mechanismen die Wirkung beruht. Untersuchungen über die α - und β -stimulierenden Effekte auf die passive Membranpermeabilität und den aktiven Transport im glatten Muskel sind zur Zeit noch nicht bekannt. Solche Untersuchungen könnten uns näheren Aufschluß über die Wirkungsweise der Pharmaka und Ionen in unseren Versuchen geben.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An den isolierten Rattenpfortadern wurden acht Substanzen hinsichtlich ihrer Wirksamkeit auf die Spontanaktivität geprüft.

Wir kamen zu folgenden Ergebnissen:

1. Vasokonstriktion verursachten Adrenalin und Noradrenalin.
2. Vasodilatation wurde durch Isoprenalinalgabe hervorgerufen.
3. Bei alleiniger Gabe von Adenosin, ATP, Magnesium-, Calcium- oder Kalium-Ionen wurde kein Einfluß auf die Spontanaktivität sichtbar.
4. Zu einer Wirkungsverstärkung führten Gaben von Adrenalin und Noradrenalin unter Einfluß von Adenosin und ATP.
5. Zu einer Hemmung der erschlaffenden Wirkung von Isoprenalin kam es durch Gaben von Adenosin und ATP.
6. Aufgehoben wurde die Wirkungsverstärkung durch ATP und Adenosin von Magnesium-, Calcium- und Kalium-Ionen und ebenso durch Isoprenalin.

Durch die vorliegende Arbeit sollte geklärt werden:

1. Wie wirken Adenosin und ATP mit Adrenalin, Noradrenalin und Isoprenalin zusammen?
2. Welche Substanzen mindern diese Wirkung oder heben sie auf?

Zu 1: Adenosin und ATP führen zu einer Potenzierung der Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin, bei Isoprenalin hemmen sie nur die vasodilatatorische Wirkung niedriger Konzentrationen, auf die durch hohe Isoprenalin-Konzentrationen hervorgerufene Vasokonstriktion zeigten sie keinen Einfluß.

Zu 2: Die potenzierende Wirkung konnte nur durch Gabe von Magnesium-, Calcium- und Kalium-Ionen oder Isoprenalin gemindert werden. Adenosin und ATP waren allein durch diese Substanzen ausspülbar.

LITERATUR

- Ahlquist, Raymond P.
A study of adrenotropic receptors.
Am. J. Physiol. 153, 586 - 600 (1948)
- Altura, B.M., B.T. Altura
Magnesium and contraction of arterial muscle.
Microvasc. Res. 7, 145 - 155 (1974)
- Bianchi, C.P.
Calcium movements in muscle.
Circul. 24, 518 - 522 (1961)
- Bianchi, C.P.
Pharmacological actions on excitation-contraction coupling
in striated muscle.
Fed. Proc. 27, 126 - 131 (1968)
- Bianchi, C.P.
Cell Calcium.
Butterworth & Co. Ltd., Washington, P.C, 1968
- Burnstock, G.
Purinergetic Nerves.
Pharmacol. Rev. 24(3), 510 - 581 (1972)
- Catchpole, H.R., N.R. Joseph, M.B. Engel
Homeostasis of connective tissues.
A.M.A. Arch. Pathol. 61, 503 - 511 (1956)
- Coleman, R.A., G.P. Levy
A non adrenergic inhibitory nervous pathway in guinea pig trachea.
Brit. J. Pharmacol. 52(2), 167 - 174 (1974)
- Coleman, R.A.
Effects of some purine derivatives on the guinea pig trachea
and their interaction with drugs that block adenosine uptake.
Brit. J. Pharmacol. 57(1), 51 - 57 (1976)
- Dale, H.H.
On some physiological actions of ergot.
J. Physiol. 34, 163 - 206 (1906)
- Furchgott, R.F.
The Classification of Adrenoceptors (Adrenergic Receptors).
An Evaluation from the Standpoint of Receptor Theory.
In: Heffter-Heubner, Handbuch der experimentellen Pharmakologie.
N.S. 33: H. Blaschko, E. Muscholl (Eds.): Catecholamines.
S. 320 - 335. Berlin - Göttingen - Heidelberg 1972

Ganong, W(illiam) F.

Medizinische Physiologie. Kurzgefaßtes Lehrbuch ...

(Übers., bearb. u. erg. v. W. Auerswald ...)

Teil III, Kap. 13, S. 200 - 204.

Springer Verlag, Berlin ... 1971, ²1972

Ders.

Lehrbuch der medizinischen Physiologie. ...

Springer Verlag, Berlin ... ³1974

Ginsborg, G.L., D.H. Jenkinson

Transmission of Impulses from Nerve to Muscle.

In: Eleanor Zaimis (Ed.), Contrib. Ruth E.M. Bowden et al.,

Neuromuscular Junction; Chapt. 3, S. 332 - 333.

= Handbuch der experimentellen Pharmakologie (erg. u. bearb.). N.S. 42.

Springer Verlag, Berlin ... 1976

Goodman, L.S., A. Gilman

The Pharmacological Basis of Therapeutics.

Macmillan, New York ⁵1975

Greenberg, S., D.C. Heitz, J.P. Long

Differential effect of metabolic inhibitors

on contractile responses of venous smooth muscle to vasoactive stimuli.

Canad. J. Physiol. 52(3), 649 - 660 (1974)

Haber, E., S. Wrenn

Problems in Identification of the Beta-Adrenergic Receptor.

Physiol. Rev. 56, 317 - 338 (1976)

Hopkins, Sandra V., R.G. Goldie

A species difference in the uptake of adenosine by heart.

Biochem. Pharmacol. 20, 3359 - 3365 (1971)

Iso, Tadashi

Effects of cyclic 3',5' AMP and related compounds

on catecholamine-induced contraction

of isolated guinea-pig vas deferens.

Jap. J. Pharmacol. 23, 717 - 721 (1973)

Livingstone, D.M., W.E.C. Wacker

The role of magnesium in neuromuscular physiology.

Triangle 10, 169 - 171 (1971)

Macintosh, F.C., B. Collier

Neurochemistry of Cholinergic Terminals.

In: Eleanor Zaimis (Ed.), Neuromuscular Junction; Chapt. 2, S. 99 - 228.

= Handbuch der experimentellen Pharmakologie. N.S. 42.

Springer Verlag, Berlin ... 1976

Meißner, Norbert

Wechselbeziehungen zwischen Sympathomimetica und Adenosin

an der isolierten Rattenaorta.

Diss. München 1976

Sigurdsson, Stefan B., Bengt Uvelius
The Effects of Variations in Extracellular Magnesium Concentration
on Electrical and Mechanical Activity in Rat Portal Vein.
Acta physiol. scand. 99, 368 - 376 (1977)

Sjöberg, B., B.A. Wahlström
The effect of ATP and related compounds
on spontaneous mechanical activity in the rat portal vein.
Acta physiol. scand. 94, 46 - 53 (1975)

Somlyo, A.P., A.V. Somlyo
Vascular Smooth Muscle.
I. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics.
II. Pharmacology of Normal and Hypertensive Vessels.
Pharmacol. Rev. 20, 197 - 272 (1968), und 22, 249 - 353 (1970)

Spedding, M., D.F. Weetman
Identification of separate receptors
for adenosine and adenosine 5'-triphosphate
in causing relaxations of the isolated taenia of the guinea pig caecum.
Brit. J. Pharmacol. 57(2), 305 - 310 (1976)

Su, C.
Vasodilator action of adenine compounds on the rabbit portal vein.
Pharmacologist 16(2), No. 560 (1974)

Schild, H.O.
The action of isoprenaline in the depolarised rat uterus.
Brit. J. Pharmacol. Chemother. 31, 578 - 592 (1967)

Schrader, J., G. Baumann, E. Gerlach
Inhibition by Adenosine of the Inotropic Action of Catecholamines.
Dtsch. Physiol. Gesellsch., 47. Meeting, Regensburg.
Pflügers Arch. 365, R4, Abstr. 13 (1976)

Thoa, Nguyen B., G. Frederick Wooten, Julius Axelrod, Irwin J. Kopin
On the Mechanism of Release of Norepinephrine from Sympathetic Nerves
Induced by Depolarizing Agents and Sympathomimetic Drugs.
Mol. Pharmacol. 11, 10 - 18 (1975)

Verhaeghe, Raymond H., P.M. Vanhoutte
Inhibition of sympathetic neurotransmission in canine blood vessels
by adenosine and adenine nucleotides.
Circ. Res. 40, 208 - 215 (1977)

Wooten, G. Frederick, Nguyen B. Thoa, Irwin J. Kopin, Julius Axelrod
Enhanced Release of Dopamine β -Hydroxylase and Norepinephrine
from Sympathetic Nerves
by Dibutylryl Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate and Theophylline.
Mol. Pharmacol. 9, 178 - 183 (1973)

Die Versuche zu der vorliegenden Arbeit wurden im Pharmakologischen Institut der Universität München unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. W. Felix durchgeführt.

Herrn Prof. Felix danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, sein stetes Interesse am Fortschreiten der Arbeit und seine freundliche Hilfe. Ebenso danke ich den Mitarbeiterinnen im Labor Felix, vor allem Frau Steigerwald und Fräulein Schubert, für ihre bereitwillige Unterstützung bei der technischen Durchführung.

LEBENS LAUF

19. 3. 1950 geboren in Regensburg als Tochter des Kaufmanns
Gerhard Leiner und seiner Ehefrau, der Lehrerin
Anna Else Leiner, geb. Königbauer
- 1956 - 1960 Besuch der Volksschule an der Flurstraße in München
- 1960 - 1969 Besuch des neusprachlichen Realgymnasiums Max-Josef-Stift
in München
- WS 1969/70 - SS 1975 Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians-
Universität in München
6. 8. 1975 Bestallung als Zahnärztin
- Seit Okt. 1975 verheiratet mit dem Zahntechniker Jürgen Brück
- 1975 - 1977 Assistentenzeit in München
- seit Nov. 1977 eigene Praxis in Regensburg

